



诱导间充质干细胞成骨分化的研究进展

宋晓佳 林 军^{通讯作者}

浙江大学医学院附属第一医院口腔诊疗中心 310000

【摘要】 间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 具有多向分化潜能, 是骨再生领域关注的热点, 本文主要讨论在 MSCs 成骨分化过程中促进、调节此过程的因素。大致可以归为以下几大类: 化学药物, 激素, 生长因子, 自体富血小板血浆, 中药提取物。

【关键词】 间充质干细胞; 诱导分化; 成骨

【中图分类号】 R68 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-9561 (2017) 02-207-02

间充质干细胞 (MSCs) 可存在于机体不同组织^[1], 具多方向分化潜能, 且具有低免疫原性, 能维持高度自我更新能力等特点, 是骨再生领域研究的重点^[2]。骨组织工程中, MSCs 通常在体外诱导为成骨细胞后与相应生物支架材料复合构建工程化骨。目前, 体外诱导 MSCs 分化为成骨细胞的方法大致可归纳为五大类: 1. 化学药物; 2. 激素; 3. 局部生长因子; 4. 自体富血小板血浆; 5. 中药提取物。

1 化学药物

以 10^{-8} mol/L 地塞米松, 50mg/L 维生素 C, 10mmol/L β -甘油磷酸二钠盐及含 10%FBS 的 DMEM 培养基配置是成骨诱导液是目前体外诱导 MSCs 向成骨细胞分化最常用的方法。地塞米松在成骨早期促进细胞分泌骨基质, 后期起加速骨基质矿化的作用。地塞米松浓度范围在 10^{-8} - 10^{-10} mol/L 范围内时^[3], 可激活 MSCs 基因组中的碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、I 型胶原、骨唾液酸糖蛋白 (bone sialoprotein, BSP) 和骨桥蛋白 (osteopontin, OPN) 等骨相关蛋白的表达, 促使成骨前体细胞的分化。 β -甘油磷酸钠能促进有机磷向无机磷转化, 促进钙盐的沉积和基质钙化, 还可以调节成骨分化关键转录因子 Cbfa 1 (core binding factor alpha 1) 的生成和转录^[4]。维生素 C 具备调节碱性磷酸酶活性的作用, 是体外促进胶原合成的必备物质^[5]。

2 激素

2.1 促甲状腺素: Bednarczuk 等^[6]发现促甲状腺素受体 (TSHR) 也分布于人和鼠成骨及破骨细胞。Kim 等^[7]发现, 甲状腺正常的健康男性, 骨密度与 TSH 呈正相关; Davies 也发现, 予去卵巢大鼠注射 TSH 可显著减少骨丢失, 改善骨强度^[8]。这些临床研究和动物实验的结果都表明, TSH 可直接促进骨再生。

2.2 雌激素: 将雌激素加入体外培养的大鼠 MSCs 培养基中, 一周内即可发现 MSCs 的倍增效率大于对照组^[9]。此外, 人工构建的骨质疏松大鼠 MSCs 体外培养时培养加入雌激素可以检测到 Col-I、ALP、Cbfa1、BMP-2 等水平提高, 而油红 O 染色阳性的细胞数下降, 而当加入雌激素受体特异性拮抗剂 ICI182, 780 时, 上述作用可被抵消。表明雌激素可直接诱导 MSCs 成骨分化, 阻断成脂分化^[10]。

3 局部生长因子

3.1 骨形态发生蛋白 (BMPs) 家族: 在众多生长因子中, 骨形态发生蛋白 (BMPs) 是唯一可以单独诱导骨组织生成的局部生长因子^[11]。BMPs 主要在骨修复初期发挥功能, 主要作用表现为: 1. 募集、趋化周围组织中未分化的 MSCs, 促进其分裂增殖及成骨分化; 2. 作为信号因子直接激活 BMP-Smad 信号通路, 同时交叉参与到 Runx2 信号通路、MAPK 等多种成骨相关信号通路的表达^[12], 以促进成骨细胞分化和成骨基质的合成与分泌; 3. 在骨折初始阶段作为相关级联反应的启动因子, 调节其他生长因子如 TGF- β , VEGF 等的表达^[13]。

3.2 胰岛素样生长因子 (Insulin like growth factor, IGF): 胰岛素样生长因子可促进细胞增殖, 调节分化, 调控多

种下游蛋白合成和分泌的作用^[14]。通常认为, IGF 与细胞表面特异性受体结合来发挥功能, 激活下游的信号级联反应, 上调相关基因表达和蛋白合成。多数学者证实, IGF 可以促进 MSCs 成骨分化的过程^[15], Wang^[16]等进一步研究发现, 此作用可能是通过增加 TAZ 表达, 进而激活 RUNX2 和 OCN 信号通路来实现的。

4 自体富血小板血浆 (platelet-rich plasma, PRP)

PRP 近年来在包括骨重建、牙髓再生、牙周组织保存等领域引起广泛的关注。PRP 是离心、浓缩全血得到的自体生物制剂, 无免疫原性, 含有高浓度的血小板生长因子^[17], 如骨形成蛋白、碱性成纤维细胞生长因子、转化生长因子- β 等。多项研究结果表明 PRP 具有促进牙髓间充质干细胞增值、BMSCs 分化的作用^[18]。

5 中药制剂

5.1 杜仲: 朱丽华等^[19]体外培养 MSCs 时将杜仲粉末经体积分数 60% 的乙醇提取, 发现其中两个组分具有显著刺激 MSCs 高表达碱性磷酸酶 (ALP) 的作用。张贤^[20]等进一步研究发现, 杜仲作用 MSCs 过程中, 成脂分化关键转录因子 aP2 的表达显著下调, 提示杜仲对 MSCs 成脂分化起抑制作用。

5.2 白藜芦醇: 白藜芦醇是一种多酚化合物, 在其使用过程中偶然发现其促进成骨细胞分化作用^[21]。新近研究发现白藜芦醇通过激活 Sirt1 从而抑制过氧化物酶, 最终发挥促进成骨细胞分化的同时抑制脂肪细胞的分化的效果^[22]。

6 总结

通过研究相关文献资料, 可了解到化学药物法是目前体外诱导 MSCs 向成骨细胞分化最常用的方法, 成骨诱导效果确切。近年来, 激素、局部生长因子在诱导 MSCs 成骨分化中的作用开始引起研究者的关注, 作用机制逐渐清晰。此外, 有研究发现自体富血小板血浆、中药提取物也有体外诱导 MSCs 成骨分化的作用, 为骨组织工程中种子细胞的培养和诱导提供了全新的提示和促进作用。

参考文献:

- [1] Ponte A L, Marais E, Galloway N, et al. The In Vitro Migration Capacity of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells: Comparison of Chemokine and Growth Factor Chemotactic Activities[M]// STEM CELLS. 2007:1737-1745.
- [2] Ito H. Chemokines in mesenchymal stem cell therapy for bone repair: a novel concept of recruiting mesenchymal stem cells and the possible cell sources[J]. Modern Rheumatology, 2011, 21(2):113-21.
- [3] Taira M, Nakao H, Takahashi J, et al. Effects of two vitamins, two growth factors and dexamethasone on the proliferation of rat bone marrow stromal cells and osteoblastic MC3T3-E1 cells[J]. 2003, 30(7):697-701.
- [4] Fujita T, Izumo N, Fukuyama R, et al. Phosphate provides an extracellular signal that drives nuclear export of Runx2/Cbfa1 in bone cells[J]. Biochemical and biophysical research communications, 2001, 280(1): 348-352.



[5]Zuk P A. Tissue Engineering Craniofacial Defects With Adult Stem Cells? Are We Ready Yet?[J]. Pediatric Research, 2008, 63(5):478-86.

[6]Bednarczuk T, Gopinath B, Ploski R, et al. Susceptibility genes in Graves' ophthalmopathy: searching for a needle in a haystack?[J]. Clinical Endocrinology, 2007, 67(1):3.

[7]Kim B J, Lee S H, Bae S J, et al. ORIGINAL ARTICLE: The association between serum thyrotropin (TSH) levels and bone mineral density in healthy euthyroid men[J]. Clinical Endocrinology, 2010, 73(3):396.

[8]Zaidi M, Davies T F, Zallone A, et al. Thyroid-stimulating hormone, thyroid hormones, and bone loss[J]. Current Osteoporosis Reports, 2009, 7(2):47-52.

[9]Gregorio G B D, Yamamoto M, Ali A A, et al. Attenuation of the self-renewal of transit-amplifying osteoblast progenitors in the murine bone marrow by 17 β -estradiol[J]. Journal of Clinical Investigation, 2001, 107(7):803-12.

[10]Okazaki R, Inoue D, Shibata M, et al. Estrogen promotes early osteoblast differentiation and inhibits adipocyte differentiation in mouse bone marrow stromal cell lines that express estrogen receptor (ER) alpha or beta[J]. Endocrinology, 2002, 143(14):2349-2356.

[11]Brown K V, Li B, Guda T, et al. Improving bone formation in a rat femur segmental defect by controlling bone morphogenetic protein-2 release[J]. Tissue Engineering Part A, 2011, 17(13-14):1735-1746.

[12]Yang S, Wei D, Wang D, et al. In vitro and in vivo synergistic interactions between the Runx2/Cbfa1 transcription factor and bone morphogenetic protein-2 in stimulating osteoblast differentiation[J]. Journal of Bone & Mineral Research, 2003, 18(4):705-715.

[13]田龙. P38MAPK 信号通路在骨形态发生蛋白 2 诱导骨髓间充质干细胞分化为心肌样细胞中的作用[D]. 辽宁医学院, 2013.

[14]Sheng M H C, Lau K H W, Baylink D J. Role of Osteocyte-derived Insulin-Like Growth Factor I in Developmental Growth, Modeling, Remodeling, and Regeneration of the Bone[J]. Journal of Bone Metabolism, 2014, 21(1):41.

[15]Ueland T. GH/IGF-I and bone resorption in vivo and in vitro[J]. European Journal of Endocrinology, 2005, 152(3):327-332.

[16]Wang S, Mu J, Fan Z, et al. Insulin-like growth factor 1 can promote the osteogenic differentiation and osteogenesis of stem cells from apical papilla[J]. Stem Cell Research, 2012, 8(3):346-356.

[17]Zhang Z Y, Huang A W, Fan J J, et al. The potential use of allogeneic platelet-rich plasma for large bone defect treatment: immunogenicity and defect healing efficacy[J]. Cell transplantation, 2013, 22(1):175-87.

[18]李洪涛, 段建民, 张宏斌, 等. 液氮冻融洗涤血小板对人牙髓细胞增殖的影响[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2010(6):314-316.

[19]朱丽华, 张贤, 张艳红, 等. 杜仲诱导骨髓间充质干细胞成骨分化的有效部位[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(36):6758-6761.

[20]张贤, 蔡建平, 张艳红, 等. 杜仲诱导大鼠间充质干细胞成骨分化中成骨与成脂相关转录因子的表达[J]. 中国组织工程研究, 2010, 14(19):3523-3526.

[21]Harikumar K B, Aggarwal B B. Resveratrol: a multitargeted agent for age-associated chronic diseases[J]. Cell Cycle, 2008, 7(8):1020-1035.

[22]Bäckesjö C M, Li Y, Lindgren U, et al. Activation of Sirt1 Decreases Adipocyte Formation During Osteoblast Differentiation of Mesenchymal Stem Cells $\uparrow$ [J]. Journal of Bone & Mineral Research the Official Journal of the American Society for Bone & Mineral Research, 2006, 21(7):993-1002.

(上接第 206 页)

用与意义, 也得到很多学者的接受与认可。随着不断推出化疗新药、新技术及新疗法在临床上的应用, 术前化疗在治疗大肠癌中的作用越来越大, 效果也将会越来越好, 化疗过程中应评估化疗在治疗肿瘤中的效果, 使用最新最科学的辅助化疗疗效评价方法及手段, 以此判断能否直接手术或者是等待最佳手术时机, 提升治疗疗效。

参考文献:

[1]于韬, 罗娅红, 李森, 等. 应用 MDCT 曲面重建评价进展期直肠癌新辅助化疗疗效[J]. 当代医学, 2010, 16(8):64-67.

[2]艾潇琳, 汪晓东, 李立. 大肠癌新辅助化疗疗效评价方法的研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2015, 24(7):773-776.

[3]李伟, 吴瑶强, 崔大伟, 等. 中低位进展期直肠癌患者新辅助治疗疗效评价[J]. 中国医药指南, 2012, 10(8):191-193.

[4]刘东博. 新辅助治疗方案治疗低位进展期直肠癌的疗效评价[J]. 中国药物与临床, 2015(7):1032-1033.

[5]罗娅红, 于韬, 何翠菊, 等. RECIST 标准在进展期结直肠癌新辅助化疗 CT 评价上的应用价值[C]// 东北三省放射学学术会议. 2010.

[6]孙燕来. 局部进展期直肠癌新辅助放化疗疗效评价[J]. 实用肿瘤杂志, 2011, 26(4):435-439.

[7]郭伟, 胡文庆, 陕柏峰, 等. 新辅助化疗治疗进展期结直肠癌的疗效研究[J]. 中国药物与临床, 2015, 15(12):1752-1754.

[8]邱兴. 结直肠癌新辅助治疗的疗效评价及相关基因 / 蛋白的表达与意义[D]. 北京中医药大学, 2012.

[9]邓文山, 孙献国, 樊胜彬, 等. 复方苦参注射液联合新

辅助化疗治疗结肠癌患者的疗效研究[J]. 健康前沿, 2016, 23(4).

[10]王润红. 50 例进展期结直肠癌新辅助化疗的疗效及对预后的影响[J]. 中国实用医刊, 2014, 41(10):26-27.

[11]刘君. 新辅助化疗治疗大肠癌的近期临床效果评价[J]. 世界临床医学, 2016, 10(15).

[12]黄金亮, 王继见. 结直肠癌新辅助化疗的研究进展[J]. 中外医疗, 2012, 31(6):188-189.

[13]束宽山, 苏昭然, 孙学工, 等. 新辅助化疗治疗进展期直肠癌 52 例临床分析[J]. 疑难病杂志, 2012, 11(10):801-802.

[14]吕国利, 白松, 王晓斌, 等. 大肠癌新辅助化疗进展[J]. 中国老年保健医学, 2011, 09(6):68-70.

[15]梁承友, 罗毅, 刘顺顺, 等. 新辅助化疗联合腹腔镜手术治疗大肠癌的临床疗效观察[J]. 中国内镜杂志, 2014, 20(3):265-269.

[16]郝雅静, 邢军, 任基伟, 等. 直肠癌新辅助放化疗影像学疗效评价现状及展望[J]. 医学综述, 2014, 20(19):3580-3582.

[17]张炜, 关克勤. 结直肠癌新辅助化疗的进展[J]. 中国医药咨讯, 2011, 03(15):79-79.

[18]谭铭辉. 新辅助化疗结合腹腔镜手术治疗进展期结直肠癌近期效果分析[J]. 辽宁医学院学报, 2015, 36(6):47-49.

[19]赵传宾, 杨旭. 结直肠癌新辅助化疗的研究新进展[J]. 科学咨询, 2014(46):6-8.

[20]叶静华. 新辅助化疗对结肠癌患者手术切除效果的临床研究[J]. 医学信息, 2013(13):195-196.

[21]成向廷, 金鹤. 术前新辅助化疗对局部晚期结直肠癌根治效果的临床观察[J]. 引文版: 医药卫生, 2015(5):52-52.